

VERIFICATION OF TRANSLATION

RE: PUBLICATION OF UNEXAMINED JAPANESE PATENT APPLICATION
NO. Hei-09-2959

I, Michio Ogawa, Toranomom East Bldg., 7-13, Nishi-Shimbashi
1-chome, Minato-ku, Tokyo, Japan, am the translator of Publication
of Unexamined Japanese Patent Application No. Hei-09-2959 and I
state that the following is a true translation to the best of my
knowledge and belief.

(Signature of Translator) Michio Ogawa
(Date) This 9th day of October, 2007.

(11) Publication Number of Patent Application: JP-A-9-2959

(43) Date of Publication of Application: January 7, 1997

(54) [Title of the Invention] IgE ANTIBODY PRODUCTION
SUPPRESSOR AND ANTI-ALLERGIC AGENT

(57) [Abstract]

[Objects] A novel means for suppression of production of IgE antibody which plays an important role in the first stage of type I allergic reaction is provided whereby treatment and prevention of type I allergy are made easy.

[Constitution] An IgE antibody production suppressor and an anti-allergic agent in which cells of lactic acid bacteria are an effective ingredient.

[Claims]

[Claim 1] An IgE antibody production suppressor in which cells of lactic acid bacteria are effective ingredient.

[Claim 2] An anti-allergic agent in which cells of lactic acid bacteria are effective ingredient.

[Claim 3] The IgE antibody production suppressor according to claim 1, wherein the lactic acid bacteria are *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus*

plantarum, Lactobacillus rhamnosus, Lactobacillus salivarius, Streptococcus thermophilus, Lactococcus lactis, Lactococcus plantarum, Lactococcus raffinolactis, Leuconostoc lactis, Leuconostoc mesenteroides, Enterococcus faecalis, or Enterococcus faecium.

[Detailed Description of the Invention]

[0001]

[Industrial Field of Application]

The present invention relates to an IgE antibody production suppressor which is effective for prevention and treatment of allergy.

[0002]

[Prior Art]

Allergic diseases are classified into from type I to type IV according to their action mechanisms and the allergic disease, but the hay fever, atopic dermatitis, bronchial asthma, ~~allergic rhinitis, allergic conjunctivitis, and food allergy~~ which causes distress to many people in Japan is an IgE antibody-dependent type I allergy.

[0003]

In an onset process of type I allergy, allergen-specific IgE antibody is firstly bonded to Fcε receptor on the surface of basophiles in blood and mast cells in tissues and then allergen is bonded to that IgE antibody, whereupon cross-link is formed between IgE antibodies. As a result of such a

cross-link, mast cells and basophiles are stimulated, whereupon chemical transmitters such as histamine, serotonin, leukotriene and heparin are liberated and these act to produce various allergic symptoms.

[0004]

Symptomatic treatment using anti-allergic agent a suppressing release of the above chemical transmitter, an anti-histaminic agent suppressing the effect of released chemical transmitter, a steroidal agent having an anti-inflammatory action, etc. have been carried out for type I allergy up to now but these conventional drugs have side effects to some extent, whereby there it is difficult to determine the method of their use.

[0005]

If production of the IgE antibody which plays an important role in the first stage of onset of type I allergy could be suppressed, that ~~likely would be~~ a fundamental prevention and treatment. However, effective means for suppression of production of IgE antibody has hardly been developed at all.

[0006]

[Problems that the Invention is to Solve]

Under such circumstances, an object of the present invention is to provide a novel means for suppression of production of IgE antibody, which plays an important role in

the first stage of type I allergic reaction, is provided, so that treatment and prevention of type I allergy are made easy.

[0007]

[Means for Solving the Problems]

The present invention which was successful in achieving the above object provides a suppressor for production of IgE antibody where cells of lactic acid bacteria are the effective ingredient, the present inventors being the first to find that cells of lactic acid bacteria suppress the production of IgE antibody.

[0008]

The present invention also provides a novel anti-allergic agent where cells of lactic acid bacteria are the effective ingredient, in which production of IgE antibody is suppressed whereby type I allergy is prevented or treated.

[0009]

~~A suppressive action of lactic acid bacteria for~~ production of IgE antibody has been confirmed by an antibody production test using spleen cells of mice which were previously immunized against ovalbumin antigen which is a representative food allergen (refer to the Examples which will be mentioned later).

[0010]

Although there are differences to some extent in the lactic acid bacteria's suppression of production of IgE

antibody depending upon bacteria type and bacteria strain, such an action has been noted in all of *Lactobacillus* and *Lactococcus* the present inventors have investigated. Accordingly, there is no limitation upon lactic acid bacteria type at all in the present invention, and any lactic acid bacteria such as genus *Lactobacillus*, genus *Streptococcus*, genus *Lactococcus*, genus *Leuconostoc*, and genus *Enterococcus* may be used.

[0011]

Specific examples of preferred lactic acid bacteria for the present invention having particularly significant suppressive action for production of IgE antibody are *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus rhamnosus*, ~~*Lactobacillus salivarius*, *Streptococcus thermophilus*~~, *Lactococcus lactis*, *Lactococcus plantarum*, *Lactococcus raffinolactis*, *Leuconostoc lactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. Preferred ones among them are those where production amount of IgE is suppressed to not more than 30 ng/ml and, more preferably, not more than 10 ng/ml in the test for suppressive action for production of IgE antibody which will be mentioned later.

[0012]

Lactic acid bacteria which are separated by a cell-collecting means such as centrifugal separation from the cultured product prepared by incubation according to any conventional method for incubation of lactic acid bacteria may be used as they are for the present invention. For the manufacture of the preparation, excipient, stabilizer, corrigent, etc. may be appropriately mixed followed by freeze-drying or dead cells may be prepared by heating and drying. It is also possible to manufacture a preparation by mixing with any other drug to the extent that the suppressive action of lactic acid bacteria for production of IgE antibody is not disturbed. Examples of dosage form are powder, tablets and drinks.

[0013]

The suppressive agent for production of IgE antibody and ~~the anti-allergic agent according to the present invention are~~ usually administered by oral route. An appropriate dose is about 10 to 1,000 mg on the basis of cell weight per day for an adult. Acute toxicity and side effects upon administration for a long period have not been noted.

[0014]

The suppressive agent for production of IgE antibody and the anti-allergic agent according to the present invention are useful for prevention and treatment of allergic disease such

as hay fever, atopic dermatitis, bronchial asthma, allergic rhinitis, allergic conjunctivitis and food allergy.

[0015]

[Examples]

Hereunder, the present invention will be illustrated by showing the result of tests of suppression of production of IgE antibody by various lactic acid bacteria. Incidentally, the lactic acid bacteria used for the test were those separated from human feces and digestive tract or dairy-related lactic acid bacteria, prepared by incubation of on an MRS medium by a conventional method, washing three times by suspending in aseptic water and by centrifugal separation, heating at 100°C for 30 minutes and freeze-drying.

[0016]

Test method:

Female BALB/c mice of five weeks age were vaccinated with aluminum hydroxide adjuvant of 1 mg (100 μ l) to which 50 μ g of ovalbumin was adsorbed, the spleen was excised therefrom after two weeks and a unicellular floating liquid was prepared. This was incubated together with ovalbumin (20 μ g) and heat-killed cells of lactic acid bacteria (0.04 μ g) using an RPMI 1640 medium (containing 100 U/ml of crystalline penicillin G potassium and 100 μ g/ml of streptomycin sulfate) containing 10% fetal bovine serum, 6×10^5 /200 μ l/well (a 96-well flat-bottom microplate; Nunc). The incubation was conducted

under the condition of 5% carbon dioxide gas at 37°C. The supernatant liquid of the culture on the 14th day was collected and the amount of IgE antibody therein was measured by a sandwich ELISA method. Then, monoclonal anti-mouse IgE antibody (R35-92; trade name: Rm-E-01P; Pharmingen), which is a primary antibody, was dissolved in a sodium carbonate buffer to make 5 µg/ml and then 50 µl thereof was added to a 96-well microplate and adsorbed at 4°C for one night. After that, blocking was conducted, 50 µl of the supernatant liquid of culture was added and the mixture was incubated at 37°C for 90 minutes. Then 50 µl of biotin-labeled anti-mouse monoclonal IgE antibody (LO-ME-2) diluted 200-fold with a physiological saline buffered with phosphate containing 0.5% Triton X-100 was added thereto as the secondary antibody and incubation was conducted at 37°C for 90 minutes. Then 50 µl of peroxidase-labeled streptoavidin (Serotec) diluted ~~400-fold with a physiological saline buffered with phosphate~~

containing 0.5% of Triton X-100 was incubated at 37°C for 90 minutes. To 100 ml of a buffer for colorization (citric acid-phosphoric acid buffer) were added 40 mg of o-phenylenediamine and 20 µl of 30% aqueous hydrogen peroxide to form a substrate solution, 100 µl of the resulting substrate solution was added to a well, an enzymatic reaction was conducted, and absorbance at 492 nm was measured. From a standard curve prepared from a monoclonal mouse IgE standard

solution, the amount of IgE antibody (ng/ml) in the supernatant liquid of culture was determined.

[0017]

Result of the test is shown in Table 1.

[Table 1]

Lactic Acid Bacteria	Produced Amount of IgE (ng/ml)
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4356)	28.12
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 4357)	8.09
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (ATCC 11975)	8.36
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (JCM 1028)	21.98
<i>Lactobacillus acidophilus</i> (JCM 1229)	10.49
<i>Lactobacillus brevis</i> (ATCC 14869)	10.66
<i>Lactobacillus buchneri</i> (ATCC 4005)	13.94
<i>Lactobacillus casei</i> (ATCC 393)	10.13
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> (ATCC 11842)	9.51
<i>Lactobacillus fermentum</i> (ATCC 14931)	9.51
<i>Lactobacillus gasseri</i> (DSM 20234)	65.95
<i>Lactobacillus helveticus</i> (ATCC 15009)	28.56
<i>Lactobacillus johnsonii</i> (JCM 2012)	37.22
<i>Lactobacillus kefir</i> (NRIC 1693)	8.22
<i>Lactobacillus paracasei</i> (NCDO 151)	9.37
<i>Lactobacillus plantanum</i> (ATCC 14917)	12.93
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> (ATCC 7469)	25.11
<i>Lactobacillus salivarius</i> (ATCC 11741)	8.00
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 19258)	3.92
<i>Streptococcus thermophilus</i> (YIT 2001, FERM P-11891)	8.98
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 14485)	8.68
<i>Streptococcus thermophilus</i> (YIT 2021)	2.00
<i>Streptococcus thermophilus</i> (NCDO 821)	4.53
<i>Streptococcus thermophilus</i> (ATCC 19287)	24.63
<i>Lactococcus lactis</i> (ATCC 19257)	28.78
<i>Lactococcus plantarum</i> (ATCC 43199)	5.76
<i>Lactococcus raffinolactis</i> (ATCC 43920)	5.45
<i>Leuconostoc lactise</i> (ATCC 119256)	4.30
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> (ATCC 19254)	8.06
<i>Enterococcus faecalis</i> (ATCC 19433)	2.46
<i>Enterococcus faecium</i> (ATCC 19434)	18.11
Control (no lactic acid bacteria added)	100.81

[0018]

The same suppressive action for production of IgE antibody as above was also confirmed for protein antibody other

than ovalbumin such as pollen and tick antigen.

[0019]

[Advantages of the Invention]

The suppressive agent for suppressing production of IgE antigen and the anti-allergic agent according to the present invention comprise lactic acid bacteria which constitute human intestinal bacterial flora or lactic acid bacteria which have been utilized for a long time for the manufacture of dairy products. Therefore, they are safe even when orally ingested for a long period continuously and, further, they should exhibit synergistically the useful actions which lactic acid bacteria have been known to have such as the effect of calming intestinal disorder, anti-tumor action, anti-mutation action, immunostimulation action, hypotensive action, anti-ulcer action and hypocholesteremic action. Accordingly, when they are used, prevention and treatment of various kinds of allergic diseases become significantly easier.

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 09-002959

(43)Date of publication of application : 07.01.1997

(51)Int.Cl.

A61K 35/74
A61K 35/74
// C12N 1/20 ()
(C12N 1/20
C12R 1:225)
(C12N 1/20
C12R 1:23)
(C12N 1/20
C12R 1:24)
(C12N 1/20
C12R 1:245)
(C12N 1/20
C12R 1:25)
(C12N 1/20
C12R 1:46)
(C12N 1/20
C12R 1:01)

(21)Application number : 07-172949

(22)Date of filing : 16.06.1995

(71)Applicant : YAKULT HONSHA CO LTD

(72)Inventor : SHIDA HIROSHI
MAKINO KUMIKO
WATANABE KOICHI
TAKAMIZAWA KOTARO

(54) IMMUNO-GLOBULIN E ANTIBODY PRODUCTION SUPPRESSANT AND ANTIALLERGIC AGENT

(57)Abstract:

PURPOSE: To obtain an IgE antibody production suppressant containing a bacterial cell of lactobacillus as an active ingredient, not only safe even if continuously ingested for a long period, but also making useful action such as intestine- control action of lactobacillus to integrally act and effective in preventing and treating various kinds of allergic diseases.

CONSTITUTION: This IgE antibody production suppressant contains bacterial cell of lactobacillus as an active ingredient. Lactobacillus acidophilus (ATCC 4356), Lactobacillus brevis (ATCC 14869), Lactobacillus buchneri (ATCC 4005), Lactobacillus casei (ATCC 393), Lactobacillus delbrueckii (ATCC 11842), Lactobacillus fermentum (ATCC 14931), etc., is preferably used as the lactobacillus.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 05.07.2001

[Date of sending the examiner's decision of rejection] 17.04.2007

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平9-2959

(43) 公開日 平成9年(1997)1月7日

(51) Int.Cl. ⁸	識別記号	序内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 35/74	ABB		A 6 1 K 35/74	ABBA
	ABF			ABF
// C 1 2 N 1/20		7804-4B	C 1 2 N 1/20	E
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:225)				

審査請求 未請求 請求項の数 3 F D (全 4 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号	特願平7-172949	(71) 出願人	000006884 株式会社ヤクルト本社 東京都港区東新橋1丁目1番19号
(22) 出願日	平成7年(1995)6月16日	(72) 発明者	志田 寛 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(72) 発明者	牧野 久美子 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(72) 発明者	渡辺 幸一 東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内
		(74) 代理人	弁理士 板井 一雄
			最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 I g E抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤

(57) 【要約】

【目的】 I型アレルギー反応の第一段階で重要な役割をするI g E抗体の産生を抑制する新規な手段を提供し、I型アレルギーの治療と予防を容易にする。

【構成】 乳酸菌の菌体を有効成分とするI g E抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤。

【特許請求の範囲】

【請求項1】 乳酸菌の菌体を有効成分とするIgE抗体産生抑制剤。

【請求項2】 乳酸菌の菌体を有効成分とする抗アレルギー剤。

【請求項3】 乳酸菌がラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・プレビス、ラクトバチルス・ブフネリ、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・デルブリュッキイ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・バラカゼイ、ラクトバチルス・プランタラム、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・プランタラム、ラクトコッカス・ラフィノラクティス、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック・メセンテロイデス、エンテロコッカス・フェーカリスまたはエンテロコッカス・フェシウムである請求項1記載のIgE抗体産生抑制剤。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、アレルギーの予防および治療に有効な、IgE抗体産生抑制剤に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 アレルギー疾患はその作用機序によりI型からIV型までに分類されているが、現在わが国で多くの人を悩ませている花粉症、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、食物アレルギー等のアレルギー疾患は、IgE抗体依存性のI型アレルギーである。

【0003】 I型アレルギーの発症過程ではまず組織内のマスト細胞や血中の好塩基球表面のFcεレセプターにアレルギー特異的IgE抗体が結合し、次いで、アレルギーがIgE抗体に結合し、IgE抗体間に架橋が形成される。この架橋によりマスト細胞や好塩基球が刺激されてヒスタミン、セロトニン、ロイコトリエン、ヘパリン等の化学伝達物質を遊離し、それらの作用によって様々なアレルギー症状が現れる。

【0004】 従来、I型アレルギーに対しては上記化学伝達物質の放出抑制作用を有する抗アレルギー剤、放出された化学伝達物質の作用を抑制するのに有効な抗ヒスタミン剤、抗炎症作用を有するステロイド剤等を用いた対症療法が行われているが、これら従来の薬剤は多かれ少なかれ副作用を伴うので使用法が難しいという問題点があった。

【0005】 I型アレルギーの発症の第一段階で重要な役割を演じるIgE抗体の産生を抑制することができれば根本的な予防と治療につながると期待されるが、IgE抗体の産生抑制に有効な手段はほとんど開発されてい

ない。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】 そこで本発明は、I型アレルギー反応の第一段階で重要な役割をするIgE抗体の産生を抑制する新規な手段を提供し、I型アレルギーの治療と予防を容易にすることを目的とする。

【0007】

【課題を解決するための手段】 上記目的を達成することに成功した本発明は、乳酸菌の菌体がIgE抗体の産生を抑制することを本発明者らが初めて見いだしたことに基づき、乳酸菌の菌体を有効成分とするIgE抗体産生抑制剤を提供するものである。

【0008】 本発明はまた、IgE抗体の産生を抑制することによりI型アレルギーを予防し更には治療を可能にする、乳酸菌菌体を有効成分とする新規な抗アレルギー剤を提供するものである。

【0009】 乳酸菌のIgE抗体産生抑制作用は、食物アレルギーの代表であるオボアルブミン抗原をあらかじめ免疫したマウスの脾臓細胞による抗体産生試験により確認された（後記実施例参照）。

【0010】 IgE抗体産生抑制作用は、菌種および菌株による多少の優劣はあっても、本発明者らが調べた範囲ですべての乳酸桿菌および乳酸球菌の菌体に認められた。したがって、本発明のための乳酸菌菌体はまったく限定されず、ラクトバチルス属、ストレプトコッカス属、ラクトコッカス属、ロイコノストック属、エンテロコッカス属等の乳酸菌がいずれも使用することができる。

【0011】 IgE抗体産生抑制作用が特に顕著で本発明のための乳酸菌として好ましいものの具体例を示すと、ラクトバチルス・アシドフィルス、ラクトバチルス・プレビス、ラクトバチルス・ブフネリ、ラクトバチルス・カゼイ、ラクトバチルス・デルブリュッキイ、ラクトバチルス・ファーメンタム、ラクトバチルス・ヘルベティカス、ラクトバチルス・ケフィア、ラクトバチルス・バラカゼイ、ラクトバチルス・プランタラム、ラクトバチルス・ラムノーサス、ラクトバチルス・サリバリウス、ストレプトコッカス・サーモフィルス、ラクトコッカス・ラクティス、ラクトコッカス・プランタラム、ラクトコッカス・ラフィノラクティス、ロイコノストック・ラクティス、ロイコノストック・メセンテロイデス、エンテロコッカス・フェーカリス、エンテロコッカス・フェシウム等がある。中でも好ましいのは、後記IgE抗体産生抑制作用試験においてIgE産生量が30ng/ml以下のもの、特に10ng/ml以下のものである。

【0012】 これらの乳酸菌は、乳酸菌培養の常法に従い任意の条件で培養し、得られた培養物から遠心分離等の集菌手段によって分離されたものをそのまま本発明のために用いることができる。製剤化に際しては賦形剤、安定剤、矯味剤等を適宜混合して凍結乾燥するほか、加

熱乾燥して死菌体にしてもよい。また、乳酸菌のIgE抗体産生抑制作用を妨げない範囲で、他の任意の薬剤を混合して製剤化することもできる。剤形としては、粉末剤、錠剤、ドリンク剤等が可能である。

【0013】本発明によるIgE抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、通常、経口投与する。適当な投与量は成人1日当たり菌体重量で約10～1000mgである。急性毒性および長期間服用時の副作用は認められない。

【0014】本発明によるIgE抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、花粉症、アトピー性皮膚炎、気管支喘息、アレルギー性鼻炎、アレルギー性結膜炎、食物アレルギー等のアレルギー疾患の予防と治療に有効である。

【0015】

【実施例】以下、各種乳酸菌のIgE抗体産生抑制作用を確認した試験の結果を示して本発明を説明する。なお、試験した乳酸菌は、ヒトの糞便や消化管から分離したもの、または酪農関連乳酸菌を、常法によりMRS培地で培養後、滅菌水懸濁と遠心分離を3回繰り返すことにより洗浄し、100℃で30分間加熱してから凍結乾燥したものである。

【0016】試験法：オボアルブミン50μgを吸着させた1mgの水酸化アルミニウムアジュバント(100μl)を5週齢の雌BALB/cマウスに免疫しておき、2週間後にその脾臓を摘出し、単細胞浮遊液を調製した。これを10%ウシ胎児血清を含むRPMI 1640培地(100U/ml結晶ペニシリンGカリウム、100μg/ml硫酸ストレptomycinを含む)を用いて、オボアルブミン(20μ*

*g) および乳酸菌の加熱死菌体(0.04μg)と共に、 6×10^5 /200μl/ウェル(96ウェル平底マイクロプレート、Nunc社)で培養した。培養は、5%炭酸ガス、37℃の条件で行なった。14日目の培養上清を集め、その中のIgE抗体量をサンドウィッチELISA法により測定した。すなわち、一次抗体であるモノクローナル抗マウスIgE抗体(R35-92、商品名R_m-E-01P、PHARMINGEN社)を炭酸ナトリウム緩衝液に5μg/mlとなるように溶解し、96ウェルマイクロプレートに50μl加え、一夜4℃で吸着させた。次いで、ブロッッキングを行なった後、培養上清50μlを加え、37℃で90分間インキュベートさせた。次いで、二次抗体として0.5% Triton X-100を含むリン酸緩衝化生理食塩水で200倍に希釈したビオチン標識抗マウスモノクローナルIgE抗体(LO-ME-2)を50μl加え、37℃で90分間インキュベートさせた。さらに、0.5% Triton X-100を含むリン酸緩衝化生理食塩水で400倍に希釈したペルオキシダーゼ標識ストレプトアビジン(Serotec社)を50μl加え、37℃で90分間インキュベートさせた。発色用緩衝液(クエン酸-リン酸緩衝液)100mlに0-フェニレンジアミン40mg、30%過酸化水素水20μlを加えた基質溶液100μlをウェルに添加して酵素反応を行い、492nmの吸光度を測定した。モノクローナルマウスIgE標準液より作成した標準曲線から、培養上清中のIgE抗体量(ng/ml)を求めた。

【0017】試験結果を表1に示す。

【表1】

乳酸菌	IgE産生量(ng/ml)
Lactobacillus acidophilus(ATCC 4356)	28.12
Lactobacillus acidophilus(ATCC 4357)	8.09
Lactobacillus acidophilus(ATCC 11975)	8.36
Lactobacillus acidophilus(JCM 1028)	21.96
Lactobacillus acidophilus(JCM 1229)	10.49
Lactobacillus brevis(ATCC 14869)	10.66
Lactobacillus buchneri(ATCC 4005)	13.94
Lactobacillus casei(ATCC 393)	10.13
Lactobacillus delbrueckii(ATCC 11842)	9.51
Lactobacillus fermentum(ATCC 14931)	9.51
Lactobacillus gasseri(DSM 20234)	65.95
Lactobacillus helveticus(ATCC 15009)	28.56
Lactobacillus johnsonii(JCM 2012)	37.22
Lactobacillus kefir(NRIC 1693)	8.22
Lactobacillus paracasei(NCDO 151)	9.37
Lactobacillus plantarum(ATCC 14917)	17.93
Lactobacillus rhamnosus(ATCC 7469)	25.11
Lactobacillus salivarius(ATCC 11741)	8.00
Streptococcus thermophilus(ATCC 19258)	3.92
Streptococcus thermophilus(YIT 2001,FERM P-11891)	8.98

5	6
Streptococcus thermophilus (ATCC 14485)	8.68
Streptococcus thermophilus (YIT 2021)	2.00
Streptococcus thermophilus (NCDO 821)	4.53
Streptococcus thermophilus (ATCC 19987)	24.63
Lactococcus lactis (ATCC 19251)	28.78
Lactococcus plantarum (ATCC 43199)	5.76
Lactococcus raffinolactis (ATCC 43920)	5.45
Leuconostoc lactis (ATCC 119256)	4.30
Leuconostoc mesenteroides (ATCC 19254)	8.06
Enterococcus faecalis (ATCC 19433)	2.46
Enterococcus faecium (ATCC 19434)	18.11
Control (乳酸菌無添加)	100.81

【0018】上記と同様のIgE抗体産生抑制作用は、オボアルブミン以外のタンパク質抗原、花粉、ダニ抗原等についても確認された。

【0019】

【発明の効果】本発明によるIgE抗体産生抑制剤および抗アレルギー剤は、ヒトの腸内フローラを構成する乳酸菌や酪農製品製造に古くから利用されて来た乳酸菌*

*らなるものであるから、長期間継続的に経口摂取しても安全であるだけでなく、整腸作用、抗腫瘍作用、抗変異作用、免疫賦活作用、血圧低下作用、抗潰瘍作用、コレステロール低下作用等、乳酸菌について周知の有用作用が複合的に作用することが期待できるので、これを用いることにより各種アレルギー疾患の予防と治療が著しく容易になる。

フロントページの続き

(51)Int.Cl. ⁶	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:23)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:24)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:245)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:25)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:46)				
(C 1 2 N 1/20				
C 1 2 R 1:01)				

(72)発明者 高見澤 康太郎
東京都港区東新橋1-1-19 株式会社ヤクルト本社内